

دراسة تأثير مستخلصات الشاي الاخضر المائية والكحولية على بعض العزلات البكتيرية المعزولة من التهابات المجاري البولية

بسام علي عبد* حسين علي خيون**

*كلية الطب البيطري، جامعة الكوفة
**كلية الطب، جامعة المثنى

الخلاصة:

جمعت 100 عينة إدرار من مرضى مصابين بالتهاب المجاري البولية الحاد والمزمن ، عُزلت 85 عزلة بكتيرية منها ، وشخصت إلى الأنواع الاتية بأستخدام الفحوصات الكيموحيوية واختبار API ، وتم تشخيصها الى *E.coli* بنسبة (20%) ، *K.pneumoniae* بنسبة (15%) ، و جنس *Enterobacter cloacae* بنسبة (10%) ، وبكتيريا *Pseudomonas aeruginosa* بنسبة (5%) ، وأما العزلات الموجبة لصبغة كرام فتمثلت *Staphylococcus aureus* بنسبة (10%) و *Staphylococcus epidermidis* بنسبة (8%) . اختبرت حساسية العزلات لـ (10) مضادا حيويًا ، وقد أظهرت العزلات البكتيرية تفاوتًا في نسب مقاومتها لهذه المضادات .
اختبرت العزلات البكتيرية على أساس ترددها الأكثر في إصابات المجاري البولية ومقاومتها لتأثير المضادات الحيوية التي هي: (*E. coli* و *K.pneumoniae* و *Enterobacter cloacae* و *Ps.aeruginosa* ، و *Staph.aureus* ، *Staphylococcus epidermidis*) . وقد تم اختيار تأثير المستخلصات المائية والكحولية لأوراق نبات الشاي الاخضر في نمو العزلات عند التراكيز (25 و 50 و 75 و 100) ملغم/مل . وأظهرت النتائج أن المستخلص الكحولي البارد لنبات الشاي الاخضر هو الأكفأ من بقية المستخلصات في التأثير في نمو البكتيريا المرضية (بطريقة الانتشار من الحفر).

Study the effect aqueous and alcoholic extracts of green tea on some bacterial isolates from infections of urinary tracts

Bassam Ali Abed*

Hussein Ali Khyoon**

*College of Veterinary Medicine, University of kufa

**College of Medicine, University of AL Muthana

Abstract:

Collected 100 samples from patients infected with generation of urinary tract infection acute and chronic, isolated 85 bacterial isolates them, and diagnosed to the following types using biochemical tests and test the API, has been diagnosed by the *E.coli* (20%), *K.pneumoniae* (15%), and the genus *Enterobacter cloacae* (10%), and the bacteria *Pseudomonas aeruginosa* (5%), while the isolates were positive for the dye Cram One was *Staphylococcus aureus* (10%) and *Staphylococcus epidermidis* by (8%). Isolates tested for sensitivity (10) an antibiotic, bacterial isolates have shown a difference in the rates of resistance to these antibiotics.

Bacterial isolates were selected on the basis of the most frequency in urinary tract infections and their resistance to the impact of antibiotics that are: (*E. coli* and *K.pneumoniae* *Enterobacter cloacae* and *Ps.aeruginosa* and, *Staph.aureus*, *Staphylococcus epidermidis*). The selection effect of water and alcoholic extracts of green tea leaves in the growth of the isolates at concentrations (25, 50, 75 and 100) mg / ml. The results showed that alcoholic extract of the plant cold green tea is more efficient than the other extracts influencing on the growth of pathogenic bacteria by used (The Agar – Well Diffusion Method).

المقدمة:

تعد أمراض الجهاز البولي من بين أهم المسببات المؤدية إلى العجز والوفاة في كثير من دول العالم (1). ولعل تكرار الإصابة بالتهاب المجاري البولية له الدور في ارتفاع نسبة الإصابة ، وقد يعزى ذلك الى عشوائية العلاج أو وجود أكثر من مسبب مرضي في الوقت نفسه (multi microbial infection) ، وهذا سوف يُسرّع من المقاومة المتعددة ضد المضادات الحيوية (2). وتحدث الإصابة النموذجية في قنوات المجاري البولية تحدث عندما تلامس الاحياء المجهرية فتحة الاحليل ، ومن ثم تبدأ بالتضاعف والنمو داخل الاحليل مسببة بذلك التهاب الاحليل (Uretheritis) ، بعد ذلك تبدأ البكتيريا بالتضاعف وتمتد الى داخل التجويف المثاني ، وبذلك تصيب الطبقة المخاطية المبطنه لها ، وعند ذلك تسبب التهاب المثانة (Cystitis) ، وهذا ما يسمى بالتهاب المجاري البولية السفلى (Lower UTI) ، واذا لم تعالج هذه الإصابة فان البكتيريا تمتد لتصيب الاجزاء العلوية من المجرى البولي بما في ذلك الكلية وعندها تسبب ما يسمى بالتهاب كبيبات الكلى (Pyelonephritis) ، وهذه الحالة تسمى بالتهاب قنوات المجاري البولية العليا (Upper UTI) (3). ان معظم اصابات المجاري البولية تنتسب بها جرثومة *E.coli* وبنسبة (80-85%) وفق إحصائيات معظم البحوث والدراسات (4,5). استخدمت النباتات الطبية لوجود الحاجة الملحة والمستمرة لإيجاد

المرضية ، والسبب الكبير الآخر متعلق بتطور المقاومة للمضادات الحيوية عند الاستخدام الطبي المستمر (6) ، لقد تطورت المقاومة للأدوية نتيجة الاستعمال العشوائي للأدوية المضادة للجراثيم التي هي أكثر شيوعاً في علاجات الإصابات المرضية مما قاد إلى مشكلة عالمية ، لذلك استجدت الحاجة لتطوير علاجات مضادة للجراثيم لعلاج الإصابات من النباتات الطبية ذات السمية القليلة للإنسان ، فقد وجد العديد من الأمثلة على المصادر النباتية التي لها فعالية علاجية قوية ومتعددة (7). ظلت المركبات الطبيعية المصدر الرئيس لابتكار عوامل علاجية لمختلف الظروف وبضمنها الإصابات المرضية (8). فالنواتج الطبيعية اذا كانت مركبات نقية أو مستخلصات نباتية خام فانها تعطي فرصة مناسبة غير محدودة إلى العلاجات الجديدة بسبب عدم كفاءة المواد العلاجية المتيسرة بأنواعها كافة (9) ، وتعرف أوراق الشاي الاخضر بانها ذات فعالية ضد مايكروبيية (antibacterial activity) ضد الاحياء المجهرية الممرضة ، ويحتوي الشاي الاخضر على مواد البولي فينول مثل (catechin و epicatechin و epigallocatechin و epigallocatechin gallate). إذ تمتلك فعالية قاتلة ضد مختلف البكتيريا المرضية الموجبة لصبغة كرام والسالبة لصبغة كرام ، بالإضافة لذلك وجد ان تركيزاً قليلاً من Epigallocatechin gallate (EGCg) يساعد على تقليل المقاومة لعزلات *methicillin-resistant Staphylococcus aureus* (MRSA) ضد مضادات البيتا لكتام (10).

مركبات مضادة للجراثيم مع تركيب كيميائي مختلف وآلية عمل جديدة ، بسبب ازدياد حالات مرضية جديدة وإعادة بزوغ الإصابات

4- أضيف (0.1) مل من تراكيز المستخلصات المذكورة أنفا لكل حفرة على انفراد بواسطة ماصة دقيقة Micropipete وبالتسلسل وعملت حفرة السيطرة المتمثلة بإضافة ماء مقطر معقم ولكي نسمح لتراكيز المستخلصات بالانتشار عبر الوسط وضعت الأطباق في الثلاجة بدرجة حرارة 4°م ولمدة نصف ساعة وحسب طريقة (12) حضنت بعدها الأطباق بدرجة حرارة 37°م ولمدة 24 ساعة .

5- حددت فعالية كل تركيز من المستخلصات بقياس قطر منطقة التثبيط Inhibition Zone حول كل حفرة.

• التحليل الإحصائي

استعمل البرنامج SAS (2001) في التحليل الإحصائي لدراسة تأثير كل من البكتريا (*E.coli* و *K.pneumoniae* و *K.oxytoca* و *Ent. Cloacae* و *Ent. Sakazakii* و *Ps.aeruginosa* و *A.baumannii* و *Staph. aureus* و *Enterococcus fecalis*) .

والتركيز (25 و 50 و 75 و 100 ملغم/مل) في معدل أقطار التثبيط ، وقورنت الفروق المعنوية بين المتوسطات باستخدام اختبار أقل فرق معنوي (LSD) .

النتائج والمناقشة:

• العزل والتشخيص

شخصت البكتريا مبدئياً على وسط اكار الدم واكار الماكونكي وبالأعتماد على بعض الصفات التفريقية الخاصة بكل نوع من انواع البكتريا ، فقد تم تشخيص الأنواع المختلفة من البكتريا التي تؤدي دورا مهما في احداث التهابات المجاري البولية ، ومنها بكتريا *Staph. aureus* فقد ظهرت مستعمراتها على وسط اكار الدم بيضاء اللون ذات حافات منتظمة لمساء ومحدبة وكانت المستعمرات لماعة ومحاطة بمنطقة تحلل في حين لم تتمكن من النمو على وسط الماكونكي ، وعند زرعها على وسط اكار المانيتول الملحي ظهرت المستعمرات صفراء اللون ومرتفعة ومدورة وذلك بسبب تخميرها لسكر المانيتول(13). وتم

المواد وطرائق العمل:

• المواد الكيميائية المستخدمة : 1- كحول ميثانول 2- حامض الكبريتيك المركز H_2SO_4 3- حامض ألكليك 4- حامض ألكليك الثلجي 5- حامض ألكليك اللامائي 5- خلاص الرصاص 6- كلوريد الحديدك 7- كلوريد الزئبقيك 8- فورمالديهايد (BDH England)

• الاوساط الزرعية المستخدمة :

1- وسط آكار المكونكي ، 2- وسط آكار الدم ، 3- وسط آكار المغذي 4- وسط آكار المانيتول الملحي (شركة DIFCO U.S.A) .

• دراسة تأثير المستخلصات النباتية المائية والكحولية الحارة والباردة في نمو العزلات البكتيرية :

اتبعت طريقة الانتشار في الحفر (The Agar – Well Diffusion Method)

(11) وفق مايلي .:

1- لقع سطح آكار مولر هنتون (Muller) Hinton Agar بواسطة مسحة قطنية معقمة (Steril Swab) من مزروع البكتريا الذي بعمر 24 ساعة و الحاوي على (1.5×10^8) خلية /مل) بمقارنته مع محلول ثابت العكورة والمحضر وكما في الفقرة (1.3.2) ثم تركت الأطباق لتجف في حرارة الغرفة .

2- عملت حفر بقطر 5 ملم في الوسط المزروع بواسطة الثاقب الفليني المعقم

(Cork Borer) بواقع خمسة حفر في الطبق .

3- حضرت تراكيز متدرجة من المسحوق النباتي المائي البارد باستخدام الماء المقطر المعقم، بإذابة 1 غرام من المستخلص الجاف في 2 مل من الماء المقطر المعقم للحصول على تركيز 500 ملغم / مل ، وعقم بورق الترشيح قطر ثقوبه 0.22 مايكروميتر (Millipore filter paper) وغُدَّ هذا التركيز هو التركيز الخزين الأساس ومنه حضرت تراكيز متدرجة وكالاتي (25 و 50 و 75 و 100) ملغم / مل .

اللاكتوز حيث تكون شاحبة وخضراء اللون لاننتاجها صبغة pyocyanin ، (15).

الكشف النوعي الكيميائي عن المركبات الفعالة في مستخلصات الشاي الاخضر

Camellia sinensis

يوضح جدول (1) نتائج الكشف عن المركبات الكيميائية للمركبات الفعالة الموجودة في المستخلصات المائية والكحولية لأوراق نبات الشاي ، تبين نتائج الكشف عن المركبات الكيميائية لمستخلص الشاي الاخضر احتواء المستخلص المائي على المركبات الآتية : فينولات وتانينات وفلافونات وقلويدات وكلايكوسيدات وتربينات وصابونيات وزيوت طيارة وذلك لقابلية هذه المركبات على الذوبان في الماء . أما بالنسبة إلى الاستخلاص بالكحول فأن المستخلص الكحولي للشاي الاخضر احتوى (بالإضافة إلى ما ذكر) على مركبات راتنجية وكومارينات وهذه المركبات لا تذوب بالماء ولكنها تذوب بالمذيبات العضوية. ولها فعالية مضادة للبكتيريا، وهذا يتفق مع ما جاء (16,17) ، كذلك فقد كانت قيمة الرقم الهيدروجيني للمستخلصات المائية والكحولية لأوراق الشاي الاخضر حامضيا أيضا .

التشخيص التأكيدي النهائي باستخدام نظام Api staph .

أما البكتيريا السالبة لصبغة كرام فقد ظهرت عدة أنواع بكتيرية ومنها بكتيريا *E.coli* فقد أظهرت الصفات الزرعية ان المستعمرات وردية اللون (بسبب تخميرها سكر اللاكتوز) وصغيرة وجافة ذات نهايات منتظمة على وسط اكار الماكونكي (14). أما بكتيريا *Klebsiella pneumoniae* فقد شخصت على وسط اكار الماكونكي بكون مستعمراتها دائرية كبيرة الحجم، ذات حافات منتظمة وردية اللون وذات قوام مخاطي لامتلاكها الكبسولة ، وتكون غير منتظمة ، (15).

أما مستعمرات بكتيريا *Ent.cloacae* مشابهة في شكل مستعمراتها واختباراتها الكيموحيوية لبكتيريا *Ent. aerogenes* ماعدا أنها كانت موجبة لفحص اليوريز (15) .

فيما كانت مستعمرات بكتيريا *Ps.aeruginosa* دائرية، ملساء، وتكون مستعمراتها محللة للدم تحللا من نوع β -Beta (hemolytic) على وسط أكار الدم، تنمو على وسط الماكونكي وتظهر غير مخمرة لسكر

جدول (1) : نتائج الكشف عن المركبات الفعالة في مستخلصات الشاي الاخضر

نبات الشاي الاخضر				المركبات الفعالة	
المستخلص الكحولي الحار	المستخلص الكحولي البارد	المستخلص المائي الحار	المستخلص المائي البارد		
+	+	+	+	Phenols	الفينولات

+	+	+	+	Tannins	التانينات
+	+	+	+	Flavonoids	الفلافونيات
+	+	+	+	Alkaloids	القلويدات
+	+	+	+	Terpene	التربينات
-	-	-	-	Steroids	السترويدات
+	+	-	-	Resins	الراتنجات
+	+	+	+	Glycosides	الكلايكوسيدات
-	+	+	+	Saponins	الصابونيات
+	+	-	-	Coumarins	الكومارينات
+	+	+	+	Volatile oils	الزيوت الطيارة
4.2	4.0	4.8	5.0	pH	الرقم الهيدروجيني

+ وجود المركب الفعال - عدم وجود المركب الفعال

ايضاً على كل من بكتريا *Ps. aeruginosa* وبمعدل (5.25) ملم. من جهة اخرى لم تظهر المستخلصات تأثير على العزلات *E. coli* و *K. pneumonia* و *Ent. cloacae* وتتفق هذه النتائج مع ما جاء به 18.

تعود الفعالية التثبيطية إلى طبيعة المواد التي يحويها النبات، كما موضحة في جدول (1) إذ أن وجود مركبات القلويدات والفينولات والتانينات والفلافونات والكلايكوسيدات والصابونيات والراتنجات التي تعد من المواد المضادة للبكتريا، كان لها الأثر في تثبيط نمو البكتريا، فالقلويدات تمتاز بقدرتها على النفاذ إلى الخلية البكتيرية والتداخل مع الحامض النووي DNA فيما تعمل التانينات على تثبيط الأنزيمات والبروتينات الناقلة والموجودة في غشاء الخلية (19). في حين تمتاز الفينولات بقابليتها على تكوين معقد مع البروتينات خارج الخلية، ومعقد مع جدار الخلية ومن ثم تعمل على تمزيق الغشاء الخلوي للبكتريا (20,21).

*تأثير مستخلصات نبات الشاي الأخضر *Camellia sinensis* في نمو البكتريا المعزولة من التهابات المجاري البولية UTI أجريت دراسة تأثير المستخلصين النباتيين المائية والكحولية لنبات الشاي الأخضر *Camellia sinensis* في الأنواع البكتيرية المعزولة من التهابات المجاري البولية UTI وهي: *Ps. aeruginosa* و *E. coli* و *K. pneumoniae* و *Ent. cloacae* و *Staph. aureus* اختبرت هذه العزلات لكونها الأكثر انتشاراً بين المصابين، ولشدة مقاومتها للمضادات الحيوية، ودرس ذلك بطريقة الانتشار في الحفر التي تمتاز بسهولة أجراءها وكفاءتها.

أوضحت النتائج وجود فروق معنوية تحت مستوى احتمالية ($P < 0.05$)، إذ يبين الجدول (2) مدى استجابة العزلات البكتيرية لفعالية المستخلصات فقد سجل المستخلص الكحولي الحار لدى العزلة *Staph. aureus* أعلى معدل بلغ (17.66) ملم، عدا المستخلص الكحولي البارد فقد كان أكفأ المستخلصات إذ أظهر تأثيره

جدول (2) : تأثير المستخلصات المائية والكحولية لأوراق الشاي في نمو البكتريا المعزولة من التهابات المجاري البولية

المستخلصات	معدلات تثبيط النمو البكتيري مقاسة بـ (ملم) $\pm$ الانحراف المعياري
------------	--

العزلات	المستخلص المائي البارد	المستخلص المائي الحار	المستخلص الكحولي البارد	المستخلص الكحولي الحار
<i>Staph.aureus</i>	0.37±9.25	0.28 ±9.08	1.06±16.16	1.83±17.66
<i>Ps.aeruginosa</i>	0.00±0.00	0.00±0.00	0.07±5.25	0.00±0.00
<i>E.coli</i>	0.00±0.00	0.00±0.00	0.00±0.00	0.00±0.00
<i>Ent.cloaceae</i>	0.00±0.00	0.00±0.00	0.00±0.00	0.00±0.00
<i>K.pneumoniae</i>	0.00±0.00	0.00±0.00	0.00±0.00	0.00±0.00

• قيم أ.ف.م (LSD): التداخل (المستخلص X التركيز): 1.750 ، (P<0.05).

أظهر الجدول (3) ان التداخل بين العزلات وتركيز المستخلصات كان معنويا تحت مستوى احتمالية (P<0.05) كان أعلى معدل قطر تثبيط (16.66) ملم عند التركيز 100 ملغم /مل ضد بكتريا *Staph.aureus* ويتضح مما تقدم أن التراكيز العالية (100 ، 75) ملغم/مل كانت أفضل بكثير من التراكيز الواطنة (50 ، 25) ملغم / مل والذي يمكن الاستدلال من خلاله على أن التراكيز العالية هي الأفضل في التطبيق العملي وذلك للحصول على نتائج أفضل .

استجابت البكتريا *Staph.aureus* (الموجبة لصبغة كرام) لتأثير المستخلص الكحولي بصورة أكثر من باقي الأنواع الأخرى من البكتريا السالبة لصبغة كرام ، وقد يرجع سبب ذلك إلى التركيب البنائي للجدار البكتيري ، إذ تفتقر البكتريا الموجبة لصبغة كرام إلى طبقة من الأغشية الخارجية تجعل نفاذية المواد لداخل الخلية اكبر مقارنة بالبكتريا السالبة لصبغة كرام ، تليها بكتريا *Ps.aeruginosa* . إذ تتفق النتائج مع ما أشار اليه (22) و (23) إلى تأثير مستخلصات الشاي الاخضر على المكورات الموجبة لصبغة كرام ، وعلى العصيات السالبة لصبغة كرام ، خصوصا التي تمتلك مقاومة متعددة للمضادات الحيوية مثل المكورات المعوية المقاومة للفاثانومايسن *Enterococci* وعزلات *Staph.aureus* المقاومة للمثسلين . كما تتفق ايضا النتائج مع ما جاء به (24,25)

الى تأثير مستخلصات الشاي الاخضر على بكتريا *Ps.aeruginosa* المقاومة للمضادات الحياتية . كما بيّن (26) تأثير مستخلصات المائية للشاي الاخضر في بكتريا *A.baumaunii* المقاومة للمضادات الحياتية. فيما لم تؤثر المستخلصات المائية والكحولية في بكتريا *E.coli* و *Ent.cloaceae* وبكتريا *Klebsiella spp.* التي لم تتأثر بسبب امتلاكها المحفظة Capsule خارج الجدار الخلوي والتي تتكون من مادة متعدد السكريد المحفظي التي تكسب البكتريا صفة الأمراض ومقاومة العوامل ضد الميكروبية . وهذا يتفق مع ما توصلت إليه الزهيري (2005) إذ أن بكتريا *Klebsiella spp.* كانت اقل تأثراً من باقي أنواع البكتريا للمستخلص الكحولي لنبات ثمار القطب *Tribulus terrestris* ، وقد أشار (27) الى ان مكونات الشاي الاخضر تمتلك فعالية ضد فايروسية ، وضد فطرية ، بالإضافة الى تثبيطه للسموم الخارجية Exotoxins . اشارت الدراسات السابقة إلى أن الشاي الاخضر يمتلك فعالية معنوية ضد عدة احياء مجهرية مثل *Salmonella typhimurium* (28) ، وبكتريا *Salmonella typhi* و *Shigella dysenteriae* و *E.coli* و *Yersinia enterocolitica* و *Vibrio cholerae* و *Campylobacter jejuni* و *Plesiomonas shigelloides*

و *Ps.aeruginosa* وعدة انواع اخرى من الاحياء المجهرية (29,30).

جدول (3) : تأثير التراكيز المختلفة للمستخلصات المائية والكحولية في نمو عزلات البكتريا المعزولة من التهابات المجاري البولية

معدلات تثبيط النمو البكتيري مقاسة بـ (ملم) $\pm$ الانحراف المعياري				التراكيز ملغم/مل العزلات
25	50	75	100	
0.17 $\pm$ 7.50	0.75 $\pm$ 13.00	0.94 $\pm$ 15.00	1.09 $\pm$ 16.66	<i>Staph.aureus</i>
0.24 $\pm$ 11.58	0.81 $\pm$ 13.75	0.85 $\pm$ 15.16	1.03 $\pm$ 16.33	<i>E. fecalis</i>
0.19 $\pm$ 8.83	0.60 $\pm$ 12.33	0.71 $\pm$ 13.25	0.87 $\pm$ 14.66	<i>A.baumaunii</i>
0.17 $\pm$ 8.58	0.57 $\pm$ 12.16	0.66 $\pm$ 13.16	0.74 $\pm$ 14.03	<i>A.baumaunii</i>
0.00 $\pm$ 0.00	0.00 $\pm$ 0.00	0.02 $\pm$ 2.50	0.03 $\pm$ 2.75	<i>Ps.aeruginosa</i>
0.02 $\pm$ 3.33	0.03 $\pm$ 3.50	0.04 $\pm$ 3.75	0.06 $\pm$ 4.25	<i>Ent.sakazakii</i>
0.00 $\pm$ 0.00	0.00 $\pm$ 0.00	0.00 $\pm$ 0.00	0.00 $\pm$ 0.00	<i>E.coli</i>
0.00 $\pm$ 0.00	0.00 $\pm$ 0.00	0.00 $\pm$ 0.00	0.00 $\pm$ 0.00	<i>Ent.cloaceae</i>
0.00 $\pm$ 0.00	0.00 $\pm$ 0.00	0.00 $\pm$ 0.00	0.00 $\pm$ 0.00	<i>K.pneumoniae</i>
0.00 $\pm$ 0.00	0.00 $\pm$ 0.00	0.00 $\pm$ 0.00	0.00 $\pm$ 0.00	<i>K.oxytoca</i>

التداخل (التركيز X العزلة): 2.575 * (P<0.05) *

evaluation of Swarming of *proteus* and effects of anti-swarm agent, Aft.J. Biotechnol .(3): 99-104.

3. **Sim, J. (2001).** Urinary Tract Infection. Nidus Info. Services, Inc. New York, U.S.A.

4. **Nester, E.W.; Anderson, D.G.; Roberts, C.E., Jr.; Pearsall, N.N. and Nester, M.T. (2001).** Microbiology A Human Perspective

المصادر:

1. **Raksha,R.; Srinivasa , H. ,and Macaden ,R.S.(2003).** Occarrence and characterisation of uropathogenic *Escherichia coli* in Urinary trach infection . Indian . J . Med . Microbiol .(2):(102 – 107) .

2. **Iwalokun, B.,Olukosi, Y.,Adejoro, A.,Olaye, J., and Fashade, O.,(2004).** Comparative biochemical and molecular

aureus. Antimicrobial Agents Chemotherapy. 46: 558-560.

11. **Mahmood , M.J.;Jawad , A.Y.; Huseein , A.M.; AL – omari , M. and AL- Nabi , A. (1989)** . intro antimicrobial activity of *salsola rosanarinus* and *Adiantum capillus* var *venerisint* . J. Crude Druge Res . 27 : 14- 16 .

12. **Crespo , M.E. ; Jimenez , J.; Gomis , E .and Navarro , C.(1990)**. Antibacterial activity of the essential oil of *thymus serpylloides* sub species *gadorensis* . Microbios . 61:181 –184.

13. **Holt, J.G.;;Krieg,N.R.;;Sneath, P.H.A.; Staley,J.T. and Williams, S. T.(1994)**. Bergey's manual of determinable bacteriology 9th ed . William and Wilkins, Baltimore.

14. **Atlas, R. A.; Parks, L. C. & Brown, A. E. (1995_a)**. Laboratory manual experimental microbiology. 1st ed. Mosby-Year book.: 312.

15. **Holt, J.G.;;Krieg,N.R.;;Sneath, P.H.A.; Staley,J.T. and Williams, S. T.(1994)**. Bergey's manual of determinable bacteriology 9th ed . William and Wilkins, Baltimore.

16. **Sofowara, A. (1984)**. A medicinal plants and Traditional medicine in Africa, John Wiley Chichester, p. 256.

(3rd ed.). McGraw- Hill Higher Education ,New York.

5. **Todar, K. (2002)**. Pathogenic *E. coli* . J. of Bacteriology,33: 340-350 .

6. **Parekh ,J. and Chanda , S.V. (2007)**. *In – vitro* screening of antibacterial activity of aqueous and alcoholic extract of various Indian plant species against selected pathogen from Enterobacteriaceae. African Journal of Microbiology Research , 1(6): 92-99.

7. **Martins , A.P. ; Salgueiro , L. and Concalves , M.J. (2001)**. Essential oil composition and antimicrobial activity of three zingiberaceae from S. Tome principle . Planta Med. , 67 : 580 – 584.

8. **Clardy , J. and Walsh , C.(2004)**. Lessons from natural molecule . Nature , 432 : 829 -837.

9. **Cos , P. ; Vlietinck , A.J. ; Berghe , D.V. and Maes , L.(2006)**. Anti- infective potential of natural products: how to develop a stronger in vitro proof – of concept . J. Ethno. Pharmacol. , 106: 290 – 320.

10. **Hu, Z.Q., Zhao, W.H., Asano, N., Yoda, Y., Hara, Y., Shimamura,T.(2002)**. Epigallocatechin gallate synergistically enhances the activity of carbapenems against methicillin-resistant *Staphylococcus*

Effects of Water Soluble Green Tea Extract on Multi-Antibiotic Resistant Isolates of *Pseudomonas aeruginosa*. Pak. J. Biol. Sci. (In Press).

25. **Lee, Y.L. ; Cesario, T. ; Wang, Y. ; Shanbrom, E. and Thrupp, L. (2003).** Antibacterial activity of vegetables and juices. Nutrition . 19: 994-996.

26. **Jazani, N. H. ; Shahabi, Sh. ; Ali, A.A. and Zartoshti, M. (2007_a).** Antibacterial Effects of Water Soluble Green Tea Extract on Multi-Antibiotic Resistant Isolates of *Acinetobacter ssp.* Pakistan Journal of biological Sciences 10(9): 1477-1480 .

27. **Taguri, T.; Tanaka, T. and Kouno, I. (2004).** Antimicrobial activity of 10 different plant polyphenols against bacteria causing food-borne disease. Biol. Pharm. Bull., 27: 1965-1969.

28. **Shetty, M.; Subbannayya, K. and Shivananda, P.G. (1994).** Antibacterial activity of tea *Camellia sinensis* and coffee *Arabica* with special reference to *Salmonella typhimurium*. J. Commun. Dis., 26: 147-150.

29. **Kim, S.; Ruengwilysup, C. and Fung, D. Y. (2004).** Antibacterial effect of water-soluble tea extracts on food born pathogens in laboratory medium and in a food model. J. Food Prot., 67: 2608-2612.

30. **Stapleton, P.D.; Shah, S.; Hamilton-Miller, J.M.; Hara, Y.**

17. **Opara, A.A. and Ansa, M.A. (1993).** The antibacterial activity of tea and coffee on selected organisms. J. Med. Lab. Sci. 3: 45-48.

18. **Mbata, T. I.; Debiao, L. U. and Saikia, A. (2006) .** Antibacterial activity of the crude extract of Chinese green tea (*Camellia sinensis*) on *Listeria monocytogenes*. African Journal of Biotechnology Vol. 7 (10): pp. 1571-1573 .

19. **Cowan ,M.M (1999).** Plant products as antimicrobial agents .Clin , Microbiol .Rev .12 (4) : 564-582 .

20. **Yan, W. ; Ohtani, K. ; Kasai, R. and Yamasaki, K. (2003).** Steroidal saponins from fruits of *Tribulus terrestris*. Phytochemistry 42 : 1417 – 22.

21. **Okennedy, R. and Thornes, R. D. (2003).** Coumarins : biology , application and mode of action , John Wiley & Sons, Inc. , New York, N. Y.

22. **Kuroda, Y. and Hara, Y. (1999).** Antimutagenic and anticarcinogenic activity of tea polyphenols. Mutat. Res. 436(1): 60-67.

23. **Hamilton-Miller, J.M.T. (1995).** Antimicrobial Properties of tea (*Camellia sinensis*). Antimicrob. Agents. Chemother. 2375-2377.

24. **Jazani, N. H. ; Shahabi, Sh. and Ali, A.A. (2006).** Antibacterial

oxacillin resistance modulating capacity of 3-acyl-catechins. Int. J. Antimicrob. Agents., 24: 374-380.

Nagaoka, Kumagai, A. and Taylor, P. W. (2004_b). Anti-*Staphylococcus aureus* activity and